

Current Biochemistry

Volume 1 (2): 89 - 100

CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355 - 7877

Journal Homepage: <http://biokimia.ipb.ac.id>Journal Email: current.biochemistry@ipb.ac.id**Perbandingan Pertumbuhan *Butyrivibrio fibrisolvens* E14****Varian *Sticky* dan *Loose***Djarot Sasongko Hami Seno^{1*}, John Douglas Brooker²¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University (IPB), Bogor 16680, Indonesia*²*University of Adelaide, Australia*

Received: 26 June 2014; Accepted 23 July 2014

*Corresponding author: Dr. Djarot Sasongko Hami Seno; Department of Biochemistry, Agatis street, Animal Science building 5th floor, Bogor 16680; email: hamisenodjarot@gmail.com

ABSTRACT

A number of Butyrivibrio fibrisolvens strains have been reported to attach cellulose fibres, feed and other particles in the rumen, as well as to sheep rumen epithelia. In this research, B. fibrisolvens E14 variants sticky (S) and loose (L) were used to study the mechanism of B. fibrisolvens attachment to surfaces, especially to plant fibre. Results may be useful in enhancing plant fiber degradation within the rumen, or the use of plant biomass as energy source. The two cell types were compared; studies included physical and growth characteristics in defined, solid or liquid medium containing various carbon sources, the presence of compounds that may induce or inhibit attachment, and their phenotypic stability. Compared to the non-adhering L cells, the adhering S cells were shinier, spherical, more intensely pigmented (yellow), more firmly attached to the agar surface and could only be removed with scraping. After longer incubation, the cells were released from the agar but the colonies tended to stick together, and only became separable when further incubated. In contrast, the L cells were non spherical, loosely attached to the agar and separable at all stages of growth. In liquid medium, the S cells tended to clump during the early stages of growth, and be dispersed at later stages. The L cells were dispersed throughout the medium at all stages of growth. The phenotypes of the 2 variants were stable; both variants maintained their characteristics through multiple passages on solid and in liquid medium. The presence of molecules that induced attachment of S or inhibited attachment of L cells were not detected.

Keywords: *Butyrivibrio fibrisolvens, bacterial attachment/adhesion, rumen, plant fiber degradation*

ABSTRAK

Beberapa strain *Butyrivibrio fibrisolvens* telah dilaporkan menempel pada permukaan serat selulosa, pakan dan partikel lain dalam rumen, serta pada epitel rumen sapi. Pada penelitian ini, *B. fibrisolvens* E14 varian lengket (sticky/S) dan lepas (loose/L) digunakan sebagai model untuk mempelajari mekanisme pelekatan *B. fibrisolvens* pada permukaan, terutama fiber tanaman. Informasi yang diperoleh dapat digunakan dalam usaha meningkatkan degradasi fiber tanaman dalam rumen, atau dalam rangka pemanfaatan biomasa tanaman sebagai sumber energi. Kedua varian dibandingkan karakteristik pertumbuhannya pada media terkontrol padat/cair dengan berbagai sumber karbon soluble/insoluble; stabilitas fenotip; dan keberadaan molekul induser/inhibitor pelekatan didapatkan sel S lebih mengkilat; lebih kuning; seferik; di awal pertumbuhan lengket pada permukaan agar dan tidak dapat dipindahkan tanpa merusak permukaan agar media padat; dan pada media cair cenderung terkumulasi pada permukaan wadah. Setelah inkubasi lebih lanjut, sel S menjadi mudah dipindahkan, tetapi sel dalam koloni cenderung lengket satu sama lain, dan menjadi terpisah/terdispersi setelah inkubasi lebih lama. Sebaliknya sel L non sferik, tidak lengket pada permukaan dan terdispersi di semua bagian media cair di semua fase pertumbuhan. Fenotip kedua varian stabil dan tidak berubah setelah 10 x pengkulturan sekuensial (~30 generasi) baik pada media padat/cair. Tidak ditemukan molekul yang menginduksi/menghambat pelekatan baik pada sel S maupun sel L

Kata kunci: *B. fibrisolvens*, bacterial attachment/adhesion, rumen, degradasi fiber tanaman

1. PENDAHULUAN

B. fibrisolvens merupakan spesies rumen yang paling versatil metaboliknya, hampir semua strainnya dapat tumbuh pada karbohidrat sederhana (glukosa, selobiosa), kompleks (selulosa, hemiselulosa, pati, pektin, manan), atau bahkan *intact forages* (Hespell 1991, Miron and Ben-Ghedalia 1993, Miron *et al.* 1994, Hespell and Cotta 1995, Zhang *et al.* 2006). Spesies ini juga merupakan salah satu bakteri rumen umum (Byrant 1959, Hungate 1988). Banyak isolat telah diperoleh dari rumen dan gastrointestinal sapi (van Glyswyk and Roche 1970, Dehority and Grubb 1981, Flint and Bayer 2008), kambing (Dehority and Grubb 1977), hewan ternak (Margherita and Hungate 1963), babi (Stack 1988), *Alaskan reindeer* (Orpin *et al.* 1985), dan pada feses manusia, kelinci, serta

kuda (Moore and Holdeman 1974, Moore *et al.* 1976, Rumney *et al.* 1995).

Sejumlah peneliti telah melaporkan beberapa strain *B. fibrisolvens* menempel pada permukaan (Dehority and Grubb 1977, 1981; Rasmussen *et al.* 1989). Organisme ini langsung menempel pada serat selulosa (Rasmussen *et al.* 1989, Zhang *et al.* 2006), pakan dan partikel lain dalam rumen (Dinsdale *et al.* 1978, Dehority and Grubb 1981), dan epitel rumen sapi (Mead and Jones 1981, Flint and bayer 2008). Namun karakteristik pelekatan *B. fibrisolvens* strain E14, yang diisolasi dari *Alaskan Reindeer* (Orpin *et al.* 1985), belum pernah dilaporkan. Ditemukannya varian sticky/lengket/S dan loose/lepas/L dari strain E14 (Nili and Brooker 1995, Nili 1996) dapat dijadikan model untuk mempelajari mekanisme pelekatan

B. fibrisolvens pada permukaan, terutama serat tanaman. Kedua varian tersebut diteliti karakteristik pertumbuhan pada media padat/cair dengan sumber karbon larut dan tidak larut; stabilitas varian; dan keberadaan molekul yang menginduksi/menginhibisi pelekatan.

2. BAHAN DAN METODE

Strain *Butyrivibrio fibrisolvens*

Butyrivibrio fibrisolvens E14 varian S dan L diperoleh dari laboratorium *rumen microbiology* Prof. J. D. Brooker, *University of Adelaide*.

Bahan media

Asam kasamino dan *Brain Heart Infusion* (BHI) diperoleh dari Difco Laboratories, Detroit, USA. Trypton dan agar dari Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, England. Resazurin, asam asetat, propionate, butirir, isobutirir, *n*-valerat, isovalerat, dan DL- α -metilbutirir dari Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA. Vitamin (biotin, riboflavin, asam folat, asam lipoat, nikotinamid, tiamin hidroklorid, piridoksamin dan kalsium pantotenat), hemin (bovin) dan L-sistein dari Sigma, Chemical Company St. Louis, USA.

Kultur *Butyrivibrio fibrisolvens*

Kultur stok *B. fibrisolvens* varian S and L disimpan pada -80°C dalam 20 % gliserol dan semua eksperimen diinokulasi dari stok gliserol. Konsentrasi kultur awal pada media pada semua percobaan 1 % v/v, kecuali disebutkan lain.

Sumber karbon

Konsentrasi sumber karbon yang digunakan 0.5 % w/v, disterilisasi menggunakan filter, dan ditambahkan terpisah.

Preparasi media anaerob

Kecuali sumber karbon, komposisi media BHI and media terkontrol/*defined medium* (DF) mengacu pada Nili and Brooker (1995). Untuk media cair, semua komponen dicampur dalam botol, diatur pH-nya, kemudian dipanaskan menggunakan *microwave power* (5 x 20 detik). Botol kemudian ditutup, ditempatkan pada *Coy anaerobic chamber* dengan atmosfir internal CO₂ 95 % v/v dan H₂ 5 % v/v yang dihubungkan dengan sirkulator unit dengan katalis paladium. Media ditempatkan dalam *chamber* sekurang-kurangnya 4 jam untuk pertukaran gas agar media menjadi anaerob. Media dipindahkan ke tabung Hungate (15 ml) atau botol lain yang telah disimpan secara anaerobik semalam. Media dalam tabung kemudian ditutup, dikeluarkan dari *chamber* anaerob, dan disterilkan dengan autoklav selama 15 menit pada 121°C, 15 psi. Untuk media padat (plate), 1.5 % agar (w/v) ditambahkan pada campuran dengan pH yang sesuai, diautoklaf seperti di atas, dituangkan pada cawan petri pada *laminar-flow cabinet* pada saat media telah didinginkan sekitar 45°C. *Plate agar* kemudian disimpan dalam *Coy anaerobic chamber*, dan dibiarkan semalam agar menjadi anaerobik.

Karakteristik pertumbuhan pada media padat dan cair

Varian S atau L dari stok gliserol ditumbuhkan pada media padat, koloni tunggal kemudian dipindahkan pada media cair dan ditumbuhkan hingga pertengahan fasa log. Kultur kemudian diinokulasikan pada media terkontrol (Nili 1996) berbentuk padat atau cair yang mengandung berbagai karbohidrat tanaman yang *soluble* (glukosa, selobiosa, sukrosa, maltosa, atau pati) maupun *insolubel*

(xilan, selulosa). Parameter yang diamati adalah karakter pertumbuhan pada varian sel S dan L meliputi bentuk pertumbuhan koloninya dan perilaku sel-nya.

Kemampuan tumbuh pada berbagai sumber karbon

Percobaan dilakukan seperti di atas, namun juga digunakan berbagai jenis xilan (*oat spelt*, *oat spelt tercuci*, *atau berchwood*) dan selulosa (karboksimetil selulosa; selulosa kristal ukuran 20, 50 atau 100; dan selulosa fibrous). Analisis dilakukan pada jumlah koloni atau OD 600 nm.

Stabilitas varian

Varian S atau L dari stok gliserol ditumbuhkan pada media padat terkontrol dengan sumber karbon glukosa (DFg padat), koloni tunggal kemudian dipindahkan pada DFg cair dan ditumbuhkan hingga pertengahan fasa log. Kultur kemudian diinokulasikan pada Dfg padat dan Dfg cair. Kultur dari media cair diinokulasikan pada Dfg padat dan DFg cair, demikian seterusnya hingga subkultur yang ke 10. Selama percobaan diamati karakteristik pertumbuhannya baik pada media cair maupun padat.

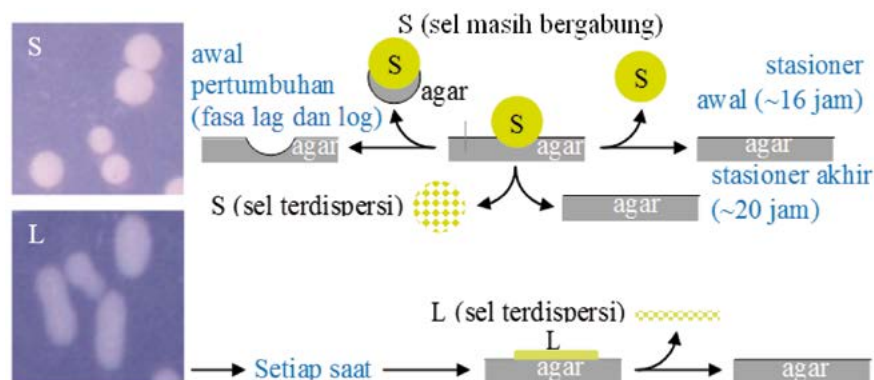
Komunikasi antar sel

Varian S ditumbuhkan pada media DFg padat, koloni tunggal kemudian dipindahkan pada media DFg cair dan ditumbuhkan hingga OD 600 nm $\sim 0,3$ serta ~ 1 . Disentrifugasi, media bebas sel difilter, kemudian ditambahkan pada kultur L dalam DFg cair dengan OD 0 (awal inokulasi), $\sim 0,3$; dan ~ 1 . Percobaan sebaliknya juga dilakukan, dimana media bebas sel dari L ditambahkan ke kultur varian S. Selama percobaan diamati karakteristik pertumbuhan S maupun L.

3. HASIL

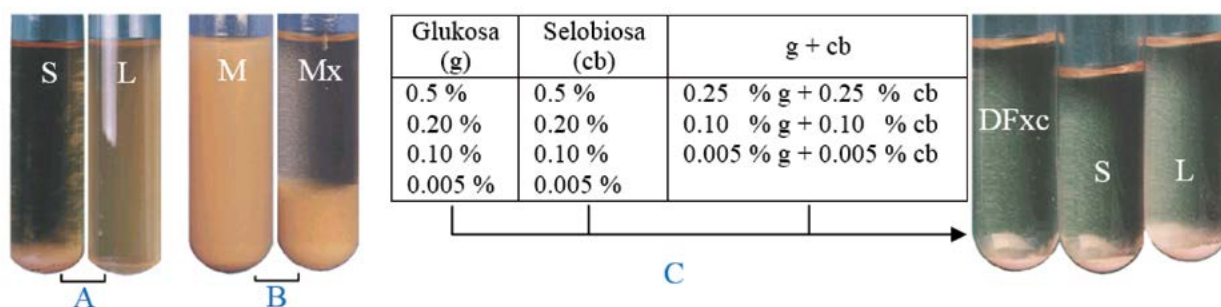
Karakteristik pertumbuhan pada media padat dan cair

Pada media padat/agar, di awal fasa log (Fletche 1977), sel S melekat kuat pada agar dan tidak dapat diambil tanpa merusak permukaan agar (Gambar 1). Setelah beberapa lama (16 jam), sekitar fasa stasioner, sel menjadi mudah diambil tetapi masih lengket satu sama lain, dan baru mudah dipisahkan satu sama lain setelah 20 jam. Sebaliknya sel L dapat dengan mudah diambil dari permukaan agar dan mudah dipisahkan satu sama lain pada setiap saat. Koloni S mengkilat, bulat, dan lebih kuning dibandingkan dengan L (Gambar 1). Selain itu, koloni S berbentuk



Gambar 1 Karakteristik pertumbuhan pada media padat.

S/L = *B. fibrisolvens* varian S/L



Gambar 2 Karakteristik pertumbuhan pada media cair

A/B/C = varian S/L pada media terkontrol (DF) (Nili 1996) dengan sumber karbon *soluble* (glukosa, selobiosa, sukrosa, maltosa, atau pati)/silan (x)/selulosa Kristal (xc). M/Mx = DF dengan sumber karbon x sebelum/sesudah inokulasi. DFxc = DF dengan sumber karbon xc.

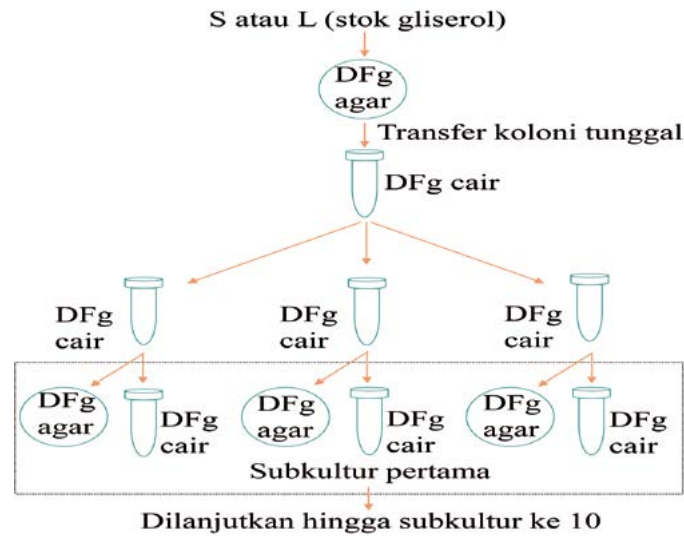
sferik/seperti bola, dibandingkan koloni L yang permukaan atas koloninya rata. Pada saat koloni S sudah mudah diambil, tidak terjadi kerusakan pada permukaan agar (Gambar 1). Hasil ini diperoleh untuk semua sumber karbon, kecuali selulosa. Pada sumber karbon selulosa kristal, hanya koloni kecil yang terlihat setelah inkubasi 3 hari, serta sulit dibedakan karakteristik antara S dan L.

Pada media cair (Gambar 2A) dengan sumber karbon *soluble* (glukosa, selobiosa,

sukrosa, maltosa or pati), sel S cenderung menggumpal pada awal pertumbuhan, kemudian baru terdispersi pada pertumbuhan selanjutnya. Sementara sel L, pada setiap saat, tumbuh terdispersi di semua bagian media. Perbedaan varian S dan L sulit diamati pada media cair dengan sumber karbon *insoluble* seperti xilan (Gambar 2B) atau selulosa Kristal (Gambar 2C), akibat interferensi substrat *insoluble*. Pada xilan, baik S maupun L berperilaku mirip. Hasil yang sama diperoleh jika sebelum dimasukkan

Tabel 1 Kemampuan S dan L tumbuh pada berbagai sumber karbon

Sumber karbon		Jumlah koloni (*) atau OD 600 nm (#)	
		S	L
<i>Brain Heart Infusion</i>	#	1.439 ± 0.027	1.281 ± 0.024
Glucosa	#	0.632 ± 0.011	0.615 ± 0.008
Selobiosa	#	0.538 ± 0.008	0.519 ± 0.007
Sucrosa	#	0.260 ± 0.005	0.114 ± 0.004
Fruktosa	#	0.025 ± 0.004	0.022 ± 0.005
Laktosa	#	0.016 ± 0.003	0.014 ± 0.004
Galaktosa	#	0.049 ± 0.005	0.047 ± 0.006
Maltosa	#	0.624 ± 0.010	0.576 ± 0.011
Pati terlarut	#	0.129 ± 0.009	0.116 ± 0.010
<i>Oat spelt xylan</i>	*	(201 ± 23)x10 ⁴	(195 ± 18)x10 ⁴
<i>Berchwood xylan</i>	*	(179 ± 20)x10 ⁴	(153 ± 16)x10 ⁴
<i>Washed (oat spelt) xylan</i>	*	(184 ± 17)x10 ⁴	(172 ± 21)x10 ⁴
<i>Carboxymethyl cellulose</i>	*	(158 ± 12)x10 ²	(140 ± 15)x10 ²
Selulosa kristal ukuran 20	*	121 ± 12	103 ± 11
Selulosa kristal ukuran 50	*	94 ± 10	83 ± 9
Selulosa kristal ukuran 100	*	81 ± 7	71 ± 10
Serat selulosa	*	67 ± 8	52 ± 5



Gambar 3 Skema percobaan stabilitas varian

DFg = medium terkontrol (Nili 1996) dengan sumber karbon glukosa.

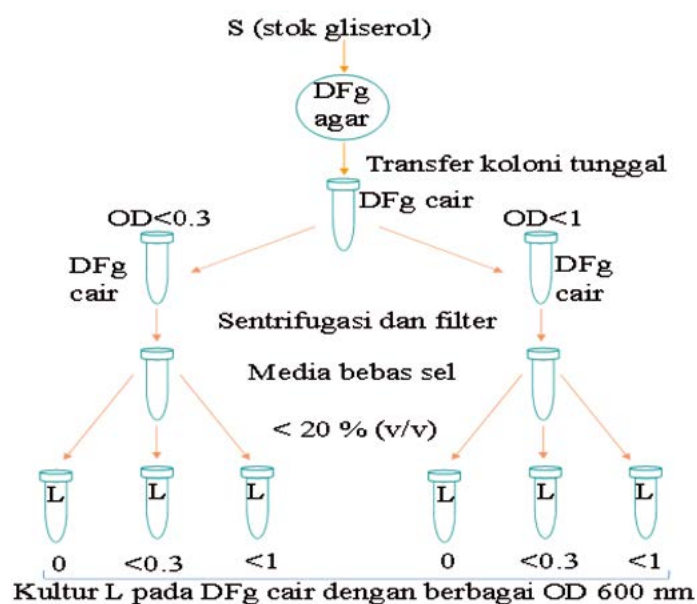
ke dalam media, terlebih dahulu silan dicuci 3 x untuk membersihkan fraksi soluble. Baik S maupun L sama-sama kurang baik pertumbuhannya pada selulosa kristal (Gambar 2C); walaupun juga dilakukan peningkatan inokulum (2-5%); maupun diadaptasi terlebih dahulu dengan pada media yang mengandung 0.5 % w/v selulosa kristal serta penurunan glukosa, selobiosa ataupun keduanya.

Pertumbuhan pada berbagai sumber karbon

Baik varian S maupun L dapat tumbuh dengan baik pada karbohidrat *soluble* dan *insoluble* yang lazim terdapat pada tanaman (Tabel 1).

Stabilitas varian

Stabilitas fenotip varian S dan L di teliti melalui subkultur sekuensial (10x) pada media padat/cair (metoda dan Gambar 3). Hasilnya



Gambar 4 Skema percobaan stabilitas varian dan komunikasi antar sel
Juga dilakukan percobaan sebaliknya dimana media bebas sel dari L ditambahkan ke kultur S. Dfg = medium terkontrol (Nili 1996) dengan sumber karbon glukosa

tidak teramati perubahan karakteristik S dan L, sel S tetap lengket pada media padat dan di awal pertumbuhan mengendap pada media cair. Sementara sel L tetap lepas pada media padat dan terdispersi disemua bagian media cair pada seluruh fasa pertumbuhan. Bentuk koloni S tetap sferik dan kekuningan, sedangkan koloni sel L tetap flat dan berwarna lebih muda.

Komunikasi antar sel

Gambar 4 menunjukkan tidak teramati efek pada penambahan (20 %, v/v) media bebas sel dari S ke kultur L atau sebaliknya, menunjukkan tidak adanya molekul spesifik yang dihasilkan oleh S maupun L yang menjembatani/menghambat pelekatan pada permukaan. Hasil yang sama juga diperoleh pada percobaan sebaliknya (media bebas sel dari L ditambahkan ke kultur S). Juga dilakukan percobaan sebaliknya dimana media bebas sel dari L ditambahkan ke kultur S.

4. PEMBAHASAN

Beberapa strain *Butyrivibrio fibrisolvens* telah dilaporkan menempel pada permukaan serat selulosa, pakan dan partikel lain dalam rumen, serta pada epitel rumen sapi. Pada penelitian ini, *B. fibrisolvens* E14 varian lengket (*sticky*/S) dan lepas (*loose*/L) digunakan sebagai model untuk mempelajari mekanisme pelekatan *B. fibrisolvens* pada permukaan, terutama serat tanaman, sebagai usaha untuk meningkatkan degradasi serat tanaman dalam rumen, atau dalam rangka pemanfaatan biomasa tanaman sebagai sumber energi. Kedua varian dibandingkan karakteristik pertumbuhannya pada media terkontrol padat/cair dengan berbagai sumber karbon *soluble/insoluble*; stabilitas fenotip; dan

keberadaan molekul induser/inhibitor pelekatan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Gambar 1 dan Gambar 2, karakteristik pertumbuhan varian L seperti pada kebanyakan strain *B. fibrisolvens*, dimana sel tidak menempel, terdispersi pada semua bagian medium, dan mudah diambil dari agar media padat. Sebaliknya varian S mengendap pada media cair, menempel pada permukaan agar, dan sel cenderung melekat satu sama lain. Setelah periode yang lebih lama (sekitar awal fase stasioner) varian S berperilaku seperti varian L, terdispersi pada media cair, tidak menempel pada permukaan agar, dan sel mudah dipisahkan satu sama lain. Karakteristik pertumbuhan yang mirip telah dilaporkan untuk *B. fibrisolvens* OB156 (Beard *et al.* 1995), mengendap pada awal pertumbuhan dan terdispersi disemua bagian media cair setelah inkubasi lebih lanjut. Kemungkinan hal ini merefleksikan perilaku alami pelekatan varian S pada permukaan dalam rumen dan mengindikasikan perbedaan preferensi nutrisi *in vivo*. Lepasnya pelekatan pada akhir fase log/awal fase stasioner kemungkinan merupakan mekanisme untuk menjaga agar populasi yang melekat pada fase log. Tanpa mekanisme ini, permukaan sel epitel akan tertutup oleh sel tua atau mati sehingga akan menghambat pelekatan sel generasi berikutnya. Agar mekanisme pelepasan dapat berlangsung, sel harus tidak lengket/ mudah lepas, seperti sel S menjelang akhir fase pertumbuhannya. Hambatan pelekatan oleh adsorpsi polimer pada substrat telah dilaporkan, diantaranya inhibisi pelekatan *Pseudomonas* pada polistiren oleh albumin, gelatin, fibrinogen atau pepsin (Fletcher 1977, 1980a); atau inhibisi pelekatan *Streptococci* pada gelas oleh saliva atau serum (Ørstavik 1977, Fletcher 1980b). Penurunan aktivitas

pelekatan akibat peningkatan umur kultur juga ditemukan pada *marine Pseudomonas*, dimana kultur fase log mempunyai kecenderungan yang lebih besar untuk melekat pada permukaan, dan terjadi penurunan progresif dari jumlah bakteri yang melekat hingga mencapai fase stasioner dan kematian sel, akibat perubahan progresif kualitas dan kuantitas polimer permukaan sel (Fletcher 1977, 1980a)

Karakteristik pertumbuhan varian L dan S pada media padat dan cair juga dibandingkan dengan pertumbuhan pada berbagai sumber karbon. Berdasarkan penelitian ini, diperoleh bahwa varian L dan S dapat tumbuh baik pada media karbohidrat *soluble* dan *insoluble*. Namun seperti *B. fibrisolvens* strain lainnya, kedua varian mempunyai aktivitas selulolitik yang rendah, terutama terhadap selulosa kristal (sigmacel ukuran 20, 50 dan 100; serta selulosa fibrous). Meskipun strain E14 telah dilaporkan selulolitik (Orpin *et al.* 1985), namun substrat yang digunakan CMC, bukan selulosa kristal. Mengingat selulosa merupakan karbohidrat tanaman terpenting, selalu diusahakan untuk mengikutkannya pada percobaan-percobaan yang terkait dengan sumber karbon. Pada beberapa sumber karbon, ada indikasi pertumbuhan varian S lebih cepat dibandingkan L.

Selain membandingkan karakteristik pertumbuhan varian L dan S, juga diamati stabilitas fenotip dari kedua varian tersebut melalui subkultur sekuensial (10 x) pada media padat/cair (Gambar 3). Berdasarkan hasil uji stabilitas yang ditunjukkan pada Gambar 3, fenotip kedua varian stabil dan tidak mudah berubah. Bersama dengan *Prevotella*, *Butyrivibrio* merupakan bakteri yang paling banyak memadati epitel bagian atas dorsal

rumen (Bauchop *et al.* 1975, Dehority and Grubb 1977, 1981). *B. fibrisolvens* strain A38, 49, 12, 49, dan X6C61 juga mendapatkan *B. fibrisolvens* mempunyai kecenderungan melekat pada selulosa (Rassmusen *et al.* 1989). Kemungkinan diperlukan lebih dari 10 sekuen subkultur (merepresentasikan > 30 generasi), atau diperlukan media lain/yang lebih kaya, untuk mengeliminasi perlunya pelekatan akibat berlebihnya nutrisi terlarut. Untuk mutasi sederhana, seharusnya dapat teramati frekuensi reversi. Hal ini tidak teramati pada hasil percobaan, bila ekspresi gen yang menjadi penyebabnya, genotipe tersebut telah fiks dalam kromosom.

Percobaan yang terakhir yaitu percobaan komunikasi antar sel yang dilakukan untuk mempelajari kemungkinan S atau L memproduksi molekul yang menjembatani (*attachment molecule*) atau menghambat (*attachment inhibitor molecule*) pelekatan pada permukaan (Waters and Bassler 2005). Media bebas sel pada OD 600 nm sekitar 0.3 or 1.0 ditambahkan pada kultur L pada saat inokulasi, pertengahan fasa log dan akhir fasa stasioner, sesuai dengan metoda dan skema pada Gambar 4.

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Gambar 4, didapatkan media bebas sel dari S jauh lebih sulit melewati membran filter (0.22 μ m) dan filter harus diganti setiap 1 ml sampel. Sedangkan sampel dari sel L dapat mudah melewati filter dan tidak perlu diganti. Diduga hal tersebut diakibatkan kandungan ekstraseluler polimer (EP). Penelitian sebelumnya mendapatkan kedua varian sama-sama memproduksi ekstraseluler polisakarida (EPS) dan produksinya relatif tidak berbeda pada sumber karbon maltosa (Nili 1995).

Keberadaan molekul yang terlibat pada pelekatan telah dilaporkan, diantaranya *attachment protein* pada *Clostridium* atau *Staphylococcus* (Gelhay et al. 1993; Fujino et al. 1993; Gerngross et al. 1993; Bowden et al. 2005; Rohde et al. 2005,2007; Corrigan et al. 2007; Banner et al. 2007); *attachment-inhibitor protein* pada *Pseudomonas*, *Streptococci*, *Flexibacter*, atau *Ruminococcus* (Fletcher 1977, 1980a, Marshall and Cruickshank 1973, Miron et al. 2001); DNA yang disekresi pada *Enterococcus* (Rice et al. 2007, Izano et al. 2008); atau molekul lain. Namun pada kondisi percobaan tidak terindikasi keberadaan molekul tersebut, baik pada S maupun L.

Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada awal pertumbuhan, varian S cenderung lengket pada permukaan media padat dan menggumpal pada media cair, sedangkan varian L tidak lengket dan terdispersi pada semua bagian media cair di semua fase pertumbuhan. Fenotip kedua varian stabil, tidak ada indikasi varian S/L memproduksi molekul yang menginduksi/menginhibisi pelekatan pada permukaan. Efek sumber karbon terhadap pelekatan relatif tidak signifikan, tetapi ada indikasi pada beberapa sumber karbon pertumbuhan S lebih cepat dibandingkan L.

5. KESIMPULAN

Pada awal pertumbuhan, varian S cenderung lengket pada permukaan media padat dan menggumpal pada media cair sedangkan varian L tidak lengket dan terdispersi di semua bagian media cair pada semua fase pertumbuhan. Fenotip kedua varian stabil, tidak ada indikasi varian S/L memproduksi molekul yang menginduksi/menginhibisi

pelekatan pada permukaan. Efek sumber karbon terhadap pelekatan relatif tidak signifikan, tetapi ada indikasi pada beberapa sumber karbon pertumbuhan S lebih cepat dibandingkan L.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Banner MA, Cunniffe JG, Macintosh RL, Foster TJ, Rohde H, Mack D, Hoyes E, Derrick J, Upton M, Handley PS (2007) Localized tufts of fibrils on *Staphylococcus epidermidis* NCTC 11047 are comprised of the accumulation-associated protein. J. Bacteriol. 189: 2793–2804.
- Bauchop T, Clarke R T J, Newhook J C (1975) Scanning electron microscopy study of bacteria associated with the rumen epithelium of sheep. Appl. Microbiol. 30: 668-675
- Bauchop T (1980) Scanning electron microscopy in the study of microbial digestion of plant fragments in the gut. In: Ellwood D C, Hedger J N, Latham M J, Lynch J M, Slater J H (eds.), Contemporary microbial ecology, Academic Press, New York, pp. 305-326
- Bauchop T (1981) The anaerobic fungi in rumen fibre digestion. Agric. Environ. 6: 338-348
- Beard C F, Hefford M A, Forster R J, Sontakke S, Teather R M, Gregg K (1995) A stable and efficient transformation system for *Butyrivibrio fibrisolvens* OB156. Curr. Microbiol. 30:105-109
- Bowden MG, Chen W, Singvall J, Xu Y, Peacock SJ, Valtulina V, Speziale P, Hook M (2005) Identification and preliminary characterization of cell-wall anchored proteins of *Staphylococcus epidermidis*. Microbiol. 151: 1453–1464.
- Byrant M P (1959) Bacterial species of the rumen. Bacteriol. Rev. 23: 125-153
- Corrigan RM, Rigby D, Handley P, Foster TJ (2007) The role of *Staphylococcus aureus* surface protein SasG in adherence and biofilm formation. Microbiol. 153: 2435–2446.
- Dehority B A (1975) Characterization studies on rumen bacteria isolated from Alaskan

- reindeer (*Rangifer tarandus* L.). Proc. of the first International Reindeer and Caribou Symposium, University of Alaska, Anchorage, 228-240
- Dehority B A, Grubb J A (1977) Characterization of the predominant bacteria occurring in the rumen of goats (*Capra hircus*). Appl. Environ. Microbiol. 33: 1030-1036
- Dehority B A, Grubb J A (1981) Bacterial population adherent to the epithelium on the roof of the dorsal rumen of sheep. Appl. Environ. Microbiol. 41: 1424-1427
- Dinsdale D, Jane Morris D, Bacon S D (1978) Electron microscopy of the microbial populations present and their modes of attack on various cellulosic substrates undergoing digestion in the sheep rumen. Appl. Environ. Microbiol., 36: 160-168
- Fletcher M (1977) The effects of culture concentration and age, time and temperature on bacterial attachment to polystyrene. Can. J. Microbiol. 23: 1-6.
- Fletcher M (1980a). Adherence of marine micro-organisms to smooth surfaces. In: Beachey E H (ed.), Bacterial adherence. Chapman and Hall, New York,
- Fletcher M (1980b) The question of passive versus active attachment mechanisms in non-specific bacterial adhesions. In: Berkeley, R. C. W., Lynch, J. M., Melling, J., Rutter, P. R. and Vincent, B. (eds.), Microbial adhesion to surfaces, Ellis Horwood, pp. 197-210
- Flint HJ, Bayer EA (2008) Plant cell wall breakdown by anaerobic microorganisms from the mammalian digestive tract. Ann. New York Acad. Sci. 1125: 280-288
- Fujino T, Beguin P, Aubert JP (1993) Organization of a *Clostridium thermocellum* gene cluster encoding the cellulosomal scaffolding protein CipA and protein possibly involved in attachment of the cellulosome to the cell surface. J. Bacteriol. 175: 1891-1899
- Gelhaye E, Petitdemange H, Gay R (1993) Adhesion and growth of *Clostridium cellulolyticum* ATCC 35319 on crystalline cellulose. J. Bacteriol. 175:3452-3458
- Gerngross V T, Romaniac P M, Huskisson N S, Demail A L (1993) Sequencing of *Clostridium thermocellum* gene (*cipA*) encoding the cellulosomal SL protein reveals an unusual degree of internal homology. J. Mol. Biol. 8: 325-334
- Hespell R B (1991) The genera *Butyrivibrio*, *Lachnospira*, and *Roseburia*. In: Balows A, Truper H G, Dworkin M, Harder W, Schleifer K H (eds.), The Prokaryotes: a hand book on the biology of bacteria. Ecophysiology, isolation, identification, and application. Springer-Verlag, New York, pp. 2022-2023
- Hespell R B, Cotta M A (1995) Degradation and utilization by *Butyrivibrio fibrisolvens* H17c of xylans with different chemical and physical properties. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3042-3050
- Hungate R E (1988) The ruminant and the rumen. In: Hobson, P. N. (ed.), The rumen microbial ecosystem, Elsevier Applied Science, London and New York, pp. 1-20
- Izano EA, Amarante, MA, Kher WB, Kaplan JB (2008) Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. Appl. Environ. Microbiol. 74: 470-476.
- Krause DO, Denman SE, Mackie RI, Morrison M, Rae AL, Attwood GT, McSweeney CS (2003) Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiol. Rev.* 27: 663-693
- Margherita SS, Hungate R E (1963). Serological analysis of *Butyrivibrio* from the bovine rumen. J. Bacteriol. 86: 855-860
- Marshall K C, Cruickshank RH (1973) Cell surface hydrophobicity and orientation of certain bacteria at interfaces. Arch. Microbiol. 91: 29-40
- Mead L J, Jones G A (1981) Isolation and presumptive identification of adherent epithelial bacteria ("epimural") bacteria from the ovine rumen

- wall. Appl. Environ. Microbiol. 41: 1020-1028
- Miron J, Ben-Ghedalia D (1993) Digestion of cell wall-wall monosaccharide of ryegrass and alfalfa hays by ruminal bacteria *Fibrobacter succinogens* and *Butyrivibrio fibrisolvens*. Can. J. Microbiol. 39: 780-786
- Miron J, Duncan S H, Stewart C S (1994) Interaction between rumen bacterial strains during degradation and utilization of the monosaccharide of barley straw cell walls. J. Appl. Bacteriol. 76: 282-287
- Miron J, Jacobovitch J, Bayer E A, Lamed R, Ben-Ghedalia D (2001) Subcellular distribution of glycanases and related components in *Ruminococcus albus* SY3 and their role in cell adhesion to cellulose. J. Appl. Microbiol. 91: 677-685.
- Moore W E C, Holdeman L V (1974) Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese Hawaiians. Appl. Microbiol. 27: 961-979
- Moore W E C, Johnson J L, Holdeman L V (1976) Emendation of *Bacteroidaceae* and *Butyrivibrio* and description of *Desulfomonas* gen nov. and the new species in the genera *Desulfomonas*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Clostridium*, and *Ruminococcus*. Int. J. Syst. Bacteriol. 26: 238-252
- Nili N, Brooker J D (1995) A defined medium for rumen bacteria and identification of strains impaired in *de novo* biosynthesis of certain amino acids. Lett. Appl. Microbiol. 21: 69-74
- Nili N (1996) Limitations to amino acid biosynthesis in ruminal strains of *Prevotella* and *Butyrivibrio*. Ph. D. thesis, University of Adelaide, South Australia, Chapters: 1, 2, 6, 7
- Orpin C G, Mathiesen S D, Greenwood Y, Blix A S (1985) Seasonal changes in the ruminal microflora of the high-artic Svalbard reindeer (*Rangifer tarandus platyrhyncus*). Appl. Environ. Microbiol., 50: 144-151
- Ørstarvik D (1977) Sorption of *Streptococci* to glass: effect of macromolecular solutes. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B. 85: 47-53.
- Rasmussen M A, White B A, Hespell R B (1989) Improved assay for quantitation adherence of ruminal bacteria to cellulose. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2089-2091
- Rice KC, Mann EE, Endres JL, Weiss EC, Cassat JE, Smeltzer MS, Bayles KW (2007) The *cidA* murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104: 8113-8118.
- Rohde H, Burandt EC, Siemssen N, Frommelt L, Burdelski C, Wurster S, Scherpe S, Davies AP, Harris LG, Horstkotte MA (2007) Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. Biomaterials, 28: 1711-1720.
- Rohde H, Burdelski C, Bartscht K, Hussain M, Buck F, Horstkotte MA, Knobloch JK, Heilmann C, Herrmann M, Mack D (2005) Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by *staphylococcal* and host proteases. Mol. Microbiol. 55: 1883-1895.
- Rumney C J, Duncan S H, Henderson C, Stewart C S (1995) Isolation and characteristics of a wheatbran-degrading *Butyrivibrio* from human faeces. Lett. Appl. Microbiol. 20: 232-236
- Stack R J (1988) Neutral sugar composition of extracellular polysaccharides produced by strains of *Butyrivibrio fibrisolvens*. Appl. Environ. Microbiol. 54: 878-883.
- Thareja A, Puniya AK, Goel G, Nagpal R, Sehgal JP, Singh PK, Singh K (2006) *In vitro* degradation of wheat straw by anaerobic fungi from small ruminants. Arch. Anim. Nutr. 60: 412-417

- van Gylswyk N O (1976) Some aspects of the metabolism of *Butyrivibrio fibrisolvens*. J. Agric. Sci. 97: 105-111
- Waters CM, Bassler BL (2005) Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 21: 319–346.
- Zhang Y, Gao W, Meng Q (2006) Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. Arch. Anim. Nutr. 61: 114–125.